پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۴ خرداد و تیر سال ۱۳۸۷ (۴۳-۳۷)

بررسی وجود ژن *cagE* در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به زخمهای پپتیک، سرطان معده و سوء هاضمه های بدون زخم

محمد حسن شیرازی(Ph.D.) * **محمدرضا پورمند**(Ph.D.) *+
محمدرضا حق شناس (Ph.D.) ** **وحیده آقارضایی محقق**(M.Sc.) ***

چکیده

سابقه و هدف: هلیکوباکترپیلوری به عنوان عامل بیماریزایی جدی در دستگاه گوارشی انسان به شمار می‌رود و عفونت ناشی از آن ممکن است در ارتباط با وجود یا عدم وجود ژن *cagE* باشد. این مطالعه به منظور بررسی وجود ژن *cagE* در ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری و ارتباط *cagE* با سوءهاضمه‌های بدون زخم، زخم‌های پپتیک و سرطان صورت گرفت.

مواد و روش‌ها : ۱۵۰ نمونه بیوپسی بیماران بر روی محیط‌های اختصاصی بروسلا آگاروکمپیلوباکتر واجد خون گوسفندی وآنتی بیوتیک‌های سه گانه کشت داده شد. پس از بررسی کلنی‌های به‌دست آمده توسط تست‌های بیوشیمیایی، استخراج ژنوم صورت گرفت، سپس به کمک پرایمرهای طراحی شده و روش PCR به بررسی وجود و یا عدم وجود ژن *cagE* انجام شد.

یافته‌ها : از ۹۲ کشت مثبت ،۱۰،۲۰،۲۸،۳۴ ایزوله به ترتیب از بیماران مبتلابه سوء هاضمه‌های بدون زخم، زخم اثنی‌عشر، زخم معده و سرطان معده به دست آمد. فراوانی ژن *cagE* در نمونه‌های فوق به ترتیب ۸۸/۲۳ درصد، ۱۰۰ درصد، ۸۵ درصد، ۱۰۰ درصد مشاهده گردید.

استنتاج : با توجه به حضور ژن *cagE* در غالب ایزوله‌های مورد بررسی حضور این ژن نمی‌تواند شاخصی جهت تفکیک ابتلاء به بیماری‌های فوق باشد.

واژه‌های کلیدی: هلیکوباکترپیلوری، *cagE* ، زخم‌های پپتیک، سرطان

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری باکتری گرم منفی، میکروآئروفیل، مارپیچی و دارای تاژک می‌باشد که به طور مزمن در اپیتلیوم معده بیش از نیمی از مردم جهان قابل ردیابی است. این باکتری بیماریزا مسئول التهاب معده یا

+ مولف مسئول : دکتر محمدرضا پورمند- تهران، صندوق پستی۶۴۴۶-۱۴۱۵۵ ، گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران
E-mail: mpourmand@tums.ac.ir
* استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی تهران ** استادیار گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
*** کارشناسی ارشد میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی قم
تاریخ دریافت : ۸۶/۸/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۶/۹/۲۶ تاریخ تصویب: ۸۶/۱۱/۳

www.SID.ir

گاستریت مزمن می‌باشد و آلودگی با این ارگانیسم یک علامت خطر مهم برای زخم‌های گوارشی و سرطان معده است(۱،۲). فاکتورهای مهم بیماریزایی هلیکوباکترپیلوری شامل: اوره آز، فلاژل، ادهزین، سیتوتوکسین واکوئل زا (*vacA*) ، *cagA* و جزیرهٔ پاتوژنسیته (*cagPAI*) می‌باشد. که به نظر می‌رسد از همه مهمتر جزیرهٔ بیماریزایی *cagPAI* است(۳،۴).

cagPAI یک جایگاه ۴۰ کیلو جفت بازی از DNA می‌باشد که به وسیله انتقال افقی از یک قطعه ژنوم حاصل می‌شود. *cagPAI* به درون ژنوم گلوتامات راسماز کروموزومی وارد می‌شود(۵) و در انتهای '3 ژن گلوتامات راسماز قرار می‌گیرد. ناحیه cag ، به وسیله جایگزینی قطعه‌ای به طول ۶۰۵ bp به دو قسمت cagI و cagII تقسیم می‌شود(۴). cagPAI شامل ۳۱ ژن می‌باشد که ۶ مورد از این ژن‌ها، سیستم ترشحی تیپ IV را رمزگذاری می‌کنند که برای انتقال مجموعه‌های ملکولی متنوع در طول غشاء باکتری به فضای خارج سلولی اختصاص یافته و ویژه می‌شود(۴).

در مطالعه انجام شده مشخص شد که ژن cagI شامل دو ژن PigA و PigB بوده که picB معادل cagE و picA معادل ژن‌های cagD , cagC می‌باشد(۵). ژن cagA در انتهای '3 و پائینی ترین بخش cagPAI قرار دارد(۵).

هلیکوباکترپیلوری را بر اساس وجود و یا عدم وجود ژن‌های cagA و vacA به دو تیپ تقسیم‌بندی می‌کنند که تیپ I دارای ژن‌های vacA و cagA می‌باشد در حالی‌که تیپ II فاقد ژن cagA است. ثابت شده که سویه‌های تیپ I غالباً در ایجاد سرطان معده و زخم دوازدهه شرکت دارند(۶،۷).

براساس مطالعات انجام شده، محققین معتقدند که cagE نسبت به cagA مارکر بهتری از شاخص cagPAI در ایزوله‌های هلیکوباکترپیلوری منطقه شانگ‌های است(۸). در بررسی بعمل آمده مشخص شد که ژن cagE در نمونه‌های جدا شده از بیماران H.Pylori مثبت در ایالات متحده حدود ۶۲ درصد به همراه ژن cagA بوده است(۹) در حالی‌که در مطالعه انجام شده در ژاپن مشخص شد که میزان cagE در بیماران H.pylori مثبت ۹۸/۸ درصد بوده است(۱۰). در تحقیق انجام شده در ژاپن در نمونه‌های زخم معده و زخم اثنی عشر مشخص شد که ژن cagE به ترتیب در ۹۲/۹ درصد و ۹۱/۳ درصد از H.pylori جدا شده است(۱۱) و درچین مشخص شد که ژن cagE در H.pylori باعث افزایش سرطان معده می‌شود در حالی‌که ژن‌های cagAs1 و VacAm1 و VacAm2 در نمونه‌های جدا شده از این باکتری در بیماران سرطان معده و دیسپلازی غیر زخمی Non–Ulcer Dysplasia (NUD) تفاوت ندارد(۱۲).

علاوه بر عوامل ذکر شده، عوامل ژنی میزبان به همراه عوامل محیطی شامل رژیم غذایی نیز شاید در بروز بیماری شرکت داشته باشند(۱۳). در این مطالعه ما به بررسی وضعیت سویه‌های هلیکوباکترپیلوری جدا شده از بیماران همراه بابیماری‌های NUD، زخم‌های پپتیک و سرطان از نظر وجود ژن *cagE* پرداختیم.

مواد و روش ها

جداسازی و کشت :

در این راستا ۱۵۰ بیوپسی از بیماران با مشکلات معده‌ای که توسط پزشک متخصص تشخیص داده شده بود از بخش‌های آندوسکوپی بیمارستان شریعتی مورد بررسی قرار گرفتند. این بیوپسی‌ها برای کشت با استفاده از سرم نرمال به آزمایشگاه میکروبشناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انتقال داده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌های بیوپسی سریعاً بر روی محیط بروسلاآگار و محیط کشت اختصاصی کمپیلوباکترسلکتیو آگار حاوی ۱۰ درصد خون گوسفند و آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین، تریمتوپریم و آمفوتریسین B، تلقیح گردیدند و سپس با استفاده از گازپک C و جار بی‌هوازی در اتو ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲-۴۸ ساعت قرار داده می‌شوند. کلنی‌های به دست آمده که حاوی باسیل گرم منفی، اسپیرال شکل، کاتالاز، اوره آز و اکسیداز مثبت بودند، به عنوان کلنی‌های هلیکوباکترپیلوری تشخیص داده می‌شدند. سپس کلنی‌های موردنظر در آب مقطر استریل جمع‌آوری می‌گردید و در دمای ۲۰° - برای انجام کارهای مولکولی نگهداری می‌شد.

Polymerase Chain Reaction (PCR) :

برای انجام تست PCR ،ابتدا از نمونه‌های نگهداری شده در شرایط ۲۰- درجه سانتیگراد استخراج DNA به عمل آمده است. در این مطالعه به منظور استخراج DNA از DNA extraction Kit (Diatom Kit از Sigma) استفاده شده است که بر مبنای استفاده از GUSCN-Silica gel طراحی شده بود برای انجام تست PCR و تکثیر قطعه ۵۰۰bp ژن cagE از پرایمرهای مناسب که قبلاً توصیف شده بود (جدول شماره ۱) و PCR Machin (master Gradient از شرکت Ependrof آلمان) استفاده شده است.

جدول شماره ۱ : پرایمرهای طراحی شده ژن های *cagE* و ureA

cagE-F	5'-TTGAAAACTTCAAGGATAGGATAGAGC-3'
cagE-R	5'-GCCTAGCGTAATATCACCATTACCC-3'
urea-F(HPU-1)	5'-CCCAATGGTAAATTAGTT-3'
urea-R(HPU-2)	5'-CTCCTTAATTGTTTTTAC-3'

به منظور تأیید نتایج حاصل از PCR، از ژن ureA استفاده شد. پرایمر برای تکثیر ژن ureA (۴۱۱bp) قبلاً توصیف شده بود(۹) (جدول شماره ۱). این ژن به صورت حفاظت شده در تمام سویه‌ها وجود داشته و به منظور بررسی نمونه‌های منفی از نظر ژن cagE استفاده گردیده بود (جدول شماره ۱).

از سوش هلیکوباکترپیلوری ATCC 43504 نیز به منظور کنترل مثبت استفاده گردید.

واکنش PCR برای ژن cagE :

برای ۵۰ میکرولیتر محصول طبق دستورالعمل ژن فن‌آوران شامل: ۳۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۵ میکرولیتر بافر، ۲ میکرولیتر Mg^{2+}، ۱ میکرولیتر dNTP (200µM)، ۲ میکرولیت ر(4 00ng) از مخلوط پرایمر (R و F) و ۰/۳ میکرولیتر super taq (2.5 U) polymerase و ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود. تکثیر قطعه در دستگاه ترموسایکلر با استفاده از برنامه: یک دمای ۹۵ درجه رسوب‌سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل ۹۴ درجه ۱ دقیقه، ۵۲ درجه ۱ دقیقه و ۷۲ درجه ۱ دقیقه و در آخر ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه انجام گردید.

واکنش PCR برای ژن ureA :

برای ۵۰ میکرولیتر محصول شامل: ۳۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۵ میکرولیتر بافر، ۲ میکرولیتر Mg^{2+}(3.5mM)، ۱میکرولیترdNTP،۲میکرولیتر از مخلوط پرایمر (Forward and Reverse primers) (4 00ng) و ۰/۳ میکرولیتر super taq polymerase (2.5U) و ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده بود. برنامه مورد استفاده در دستگاه PCR برای تکثیر این ژن عبارت بود از: یک دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه اولیه به مدت ۵

Archive of SID

www.SID.ir

دقیقه، ۳۵ سیکل ۹۵ دقیقه برای ۱ دقیقه، ۴۵ درجه برای ۱ دقیقه و ۷۲ درجه برای ۱ دقیقه و در نهایت یک دمای ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه.

محصول PCR به دست آمده در ژل ۲ درصد آگاروز با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و با استفاده از الکتروفورز ران شد و سپس با استفاده از UV ترانس لومینیتور باندها مشاهده گردید.

یافته ها

از ۱۵۰ نمونه بیوپسی متعلق به ۷۸ مرد و ۷۲ زن، ۹۲ کشت مثبت بدست آمده که ۳۴ نمونه مربوط به افراد مبتلا به NUD، ۲۸ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم اثنی‌عشر، ۲۰ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم‌معده و ۱۰ نمونه مربوط به افراد مبتلا به سرطان معده بود. بعد از PCR محصول ۵۰۰bp مشاهده شده در ژل آگارز به عنوان نمونه حاوی ژن cagE در نظر گرفته می‌شد(شکل شماره ۱) و نمونه‌های cagE منفی که حاوی محصول ۴۱۱bp ژن ureA بودند به عنوان نمونه cagE منفی تایید می‌شدند.

شکل شماره ۱ : مشاهده باند متعلق به ژن *cagE* به اندازه ۵۰۰bp بر روی ژل الکتروفورز: ستون اول کنترل منفی و ستون های ۲، ۳، ۴ و ۵ ایزوله های *cagE* مثبت.

در کل ۸۵ ایزوله (۹۲/۳۹ درصد) ژن cagE را حمل می‌کردند. فراوانی ژن cagE در سویه‌های مرتبط با هر گروه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲ : فراوانی ژن cagE دربیماران مبتلا به زخم های پپتیک، سرطان معده و NUD

	تعداد	$cagE^+$
Gastric Cancer	۱۰	۱۰(۱۰۰%)
Duodenal Ulcer	۲۸	۲۸(۱۰۰%)
Gastric Ulcer	۲۰	۱۷(۸۵%)
Non Ulcer Dyspepsia	۳۴	۳۰(۸۸,۲۴%)

بحث

در بررسی‌های بعمل آمده در این تحقیق مشخص شد که ژن CagE در ۹۲ درصد از H.Pylori بیماران جدا شده است. همانطور که در نتایج اشاره شد ژن cagE در هلیکوباکترپیلوری بر روی cagPAI واقع شده و به عنوان یک فاکتور مهم محسوب می‌شود.

Day و همکارانش بیان کردند که هلیکوباکترپیلوری‌های دارای ژن cagE در کودکان کانادایی با زخم دوازدهه مشاهده می‌شوند(۱۳). در مطالعه Jenks و همکارانش بیان گردید که حضور کامل جزیره بیماریزا در ایزوله‌های بیماران با زخم دوازدهه بیش از گاستریت است(۱۴). در همین حال آنها نشان دادند که هیچ ژن مناسب و قابل اعتمادی در cagPAI وجود ندارد که بتواند مرتبط باعلائم بالینی باشد. میزان ایزوله‌های $cagE^+$ در بیماران H.Pylori در ۳ جامعه Malay، Indian، Chinese در سال ۲۰۰۵ به ترتیب عبارت بود از : ۷۰، ۸۱/۶ و۳۹ درصد (۱۵). در مطالعه دیگری توسط Tiwari و همکاران در سال ۲۰۰۵ حضور ژن cagE در ایزوله های بزاق بیماران هندی ۸۷/۵ nvwn گزارش شد که از این مقدار ۵/ ۹۲ درصد بیماران دارای زخم و ۷۷/۵ درصد بیماران NUD

Archive of SID

www.SID.ir

بودند(۱۶).در بررسی‌های عمل آمده بر روی ۸۱ بیمار که از H.Pylori مثبت بوده اند در ۸۰ نمونه (۹۸/۸ درصد) ژن cage جدا شده است(۱۰) و در مطالعه جداگانه از نمونه‌های زخم معده و زخم اثنی عشر ژن CagE به ترتیب در ۹۲/۹ درصد و ۹۱/۳ درصد از H.Pylori جدا شده است(۱۱). در تحقیق انجام شده در چین مشخص شد که ژن cagE باعث افزایش Gastric Cancer می‌شود(۱۲). در سال ۲۰۰۲ Fukuta و همکارانش متوجه شدند که حدود ۹۸/۸ درصد از ایزوله‌ها دارای ژن cagE بودند و یک بیمار فاقد cagE بود که مبتلا به گاستریت بود. بنابراین آنها بیان کردند که هیچ ارتباطی بین موقعیت cagE و علائم بالینی وجود ندارد(۱۷).

LI و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۶ پس از مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که فراوانی ژن cagE در بیماران در منطقه شانگهای چین ۹۹ درصد ($\frac{۹۸}{۹۹}$) بود که این میزان در مقایسه با cagA ($\frac{۸۴}{۹۹}$ = ۸۴/۸٪) بیشتر بود. در میان بیماران $cagE^+$، ۱۷ بیمار دارای گاستریت سطحی مزمن، ۲۱ بیمار دارای گاستریت آتروفی مزمن، ۱۸ بیمار دارای زخم معده، ۲۳ بیمار دارای زخم دوازدهه و ۱۹ بیمار دارای سرطان معده بودند و میزان فراوانی هر یک به ترتیب ۱۰۰ و۹۴/۱۰۰،۷، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد بود. همچنین آنها متوجه شدند که از بین این $cagE^+$ ها، ۱۴ سویه $cagA^-$ بودند. بنابراین آنها به این نتیجه رسیدند که cagE شاخص مهمتر و بهتر از فاکتور cagPAI در بیماران آلوده به هلیکوباکترپیلوری در منطقه شانگ‌های بود(۸).

Podzorski و همکاران وی در سال ۲۰۰۳ بر روی بیماران منطقه میدوست ایالات متحده امریکا مطالعاتی انجام دادند. آنها میزان فراوانی ژن cagE را در این بیماران ۶۲ درصد تخمین زدند. آنها در تحقیقاتشان متوجه شدند که تمامی cagE مثبت‌ها، cagA مثبت نیز بودند(۹).

در مطالعه ما در میان ایزوله‌های $cagE^+$ (۸۵)، ۱۰ بیمار دارای سرطان معده، ۲۸بیمار دارای زخم دوازدهه، ۱۷ بیمار دارای زخم معده و ۳۴ بیمار دارای NUD بودند که فراوانی آنها به ترتیب، ۱۰۰، ۱۰۰، ۸۵ و ۸۸/۲۴ درصد بود که این مقادیر تفاوت معنی‌داری با مقادیر گزارش شده در چین(۰/۳ درصد)، میدوست ایالات متحده امریکا(۶۲ درصد) و قومیت‌های مالزیایی (Malay ۷۰ درصد، Indian ۸۱/۶ درصد و chinese ۳۹ درصد) دارد و نشان می‌دهد که ژن cagE در ایزوله‌های H.pylori در ایران می‌تواند نقش مؤثر و مهمی در ایجاد زخم‌های پپتیک دارا باشد.

مطابق با نقش این ژن در سویه‌های مرتبط با بیماری‌های معدی دراین کشورها به نظر می‌رسد که وجود cagE می‌تواند به عنوان شناساگر در اکثر قریب به اتفاق سویه‌های هلیکوباکترپیلوری در کشور ما نیز در نظر گرفته شود. همان‌طور که گفته شد فراوانی ژن cagE در ایران، تفاوت معنی‌داری با مقادیر گزارش شده در چین، ما لزی و ایالات متحده آمریکا دارد ولی با توجه به مطالعه محققان در ژاپن با یافته‌های ما همخوانی دارد. باید توجه داشت با توجه به حضور ژن cagE در غالب نمونه‌های مورد بررسی حضور این ژن نمی‌تواند شاخصی جهت تمایز ابتلاء بیماران مبتلا به زخم‌های پپتیک، سرطان معده و سوءهاضمه‌های بدون زخم باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از آقای دکتر ناصر ابراهیمی دریانی متخصص گوارش جهت در اختیار گذاردن نمونه‌های بیوپسی کمال تشکر را داشته باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Makola D, Peura DA, Crowe SE. Helicobacter pylori Infection and Related Gastrointestinal Diseases. ***J Clin Gastroenterol*** 2007; 41(6): 548-558.
2. Peter S, Beglinger C. Helicobacter pylori and gastric cancer: the causal relationship. ***Digestion*** 2007; 75(1): 25-35.
3. Kundu P, Mukhopadhyay AK, Patra R, *et al.* Cag pathogenicity island-independent up-regulation of matrix metalloproteinases-9 and -2 secretion and expression in mice by Helicobacter pylori infection. ***J Biol Chem*** 2006; 281(45): 34651-34662.
4. Akopyants NS, Clifton SW, Kersulyte D et al. Analysis of the *cag* pathogenicity island of Helicobacter pylori. ***Mol Microbiol*** 1998; 28: 37-53.
5. Tummura MK, Sharma SA, Blaser MJ *et* al. Helicobacter pylori picB, a homologue of Bordetella pertusis toxin secretion protein, is required for induction of IL-8 in gastric epithelial cells. ***Mol Microbiol*** 1995; 18: 867-876.
6. Atherton JC, Cao P, Peek RM et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori: Association of specific vacA with cytotoxin production and peptic ulceration. ***J Biol Chem*** 1995; 270: 17771-1777.
7. Weel JF, Van der Hulst RW, Gerrits Y et al. The interrelationship between cytotoxin- associated gene A, vaculating cytotoxin, and Helicobacter pylori-related disease. ***J Infect Dis*** 1996; 173: 117-175.
8. Li X, Liu W, Xu W, Shi Y and Xiao S. Clinical implications and prevalence of cagA, cagE and cagT genes in the pathogenicity island of Helicobacter pylori strains isolated from Shanghai patients. ***Chin J Dig Dis*** 2001; 2(3): 133-136.
9. Podzorski RP, Podzorski DS, Wuerth A & Tolia V. Analysis of the vacA, cagA, cagE, iceA, and babA2 genes in Helicobacter pylori from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. ***Diagn Microbiol Infect Dis*** 2003; 46: 83-88.
10. Fukuta K, Azuma T, Ito Y, Suto H, Keida Y, Wakabayashi H, Watanabe A, Kuriyama M. Clinical relevance of cagE gene from Helicobacter pylori strains in Japan. ***Dig Dis Sci*** 2002; 47(3): 667-674.
11. Sadakane Y, Kusaba K, Nagasawa Z, Tanabe I, Kuroki S, Tadano J. Prevalence and genetic diversity of cagD, cagE, and vacA in Helicobacter pylori strains isolated from Japanese patients. ***Scand J Gastroenterol*** 1999; 34(10): 981-986.
12. Fock KM, Subbiah D, Ang TL, Ang DTL, Lim DT, Wong WK, Toh HC, Ng TM, Teo EK, Tan JY; Gastric cancer is associated with Helicobacter pylori cagE

Archive of SID

www.SID.ir

genotype in Chinese patients. 2003 ASCO Annual Meeting, ***Proc Am Soc clin Oncol*** 22: 2003 (abstract 1433).

13. Day AS, Jones NL, Lynett JT, Jennings HA, Fallone CA, Beech R & Sherman PM. cagE is a virulence factor associated with Helicobacter pylori-induced duodenal ulceration in children. ***J Infect Dis*** 2000; 181: 1370-1375.
14. Jenks PJ, Megraud F & Labigne A. Clinical outcome after infection with Helicobacter pylori does not appear to be reliably predicted by the presence of any of the genes of the cag pathogenicity island. ***Gut*** 1998; 43: 752-758.
15. Tan HJ, Rizal AM, Rosmadia MY et al. Distribution of Helicobacter pylori cagA, cagE and vacA in different ethnic groups in kuala Lumpur, Malaysia. ***J Gastroen Hepatol*** 2005; 20: 589-594.
16. Tiwari SK, Khan AA, Ahmed KS et al. Polymerase chain reaction based analysis the cytotoxin associated gene pathogenicity Island of Helicobacter pylori from saliva. ***Gastrol*** 2005; 20: 1560-1566.
17. Fukuta K, Azuma T, Ito Y et al. Clinical Relevance of cagE gene from Helicobacter pylori strains in Japan. ***Dig Dis Sci*** 2002; 97(3): 667-674.

Archive of SID

www.SID.ir